植 物 分 类 学 报 43 (6): 526–532(2005) doi:10.1360/aps040119
Acta Phytotaxonomica Sinica http://www.plantsystematics.com

濒危植物巴东木莲花粉母细胞减数分裂观察

何子灿 李晓东 李建强*

(中国科学院武汉植物园 武汉 430074)

Meiotic observations on the pollen mother cells of *Manglietia patungensis*, an endangered species

HE Zi-Can LI Xiao-Dong LI Jian-Qiang*

(*Wuhan Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences*, Wuhan 430074, China)

Abstract A comparative study of meiosis of pollen mother cells in *Manglietia patungensis* Hu and its closely related species *M. yuyuanensis* Law was carried out. These two species had the same chromosome number of 2n=38 and the same karyotype, but their chromosomal behaviors in meiosis were different. In *M. patungensis*, the typical chromosome configurations observed at metaphase were 2n=0.30IV+18.33II+0.15I, whereas those in *M. yuyuanensis* were 2n=19II, indicating that some chromosomes in *M. patungensis* might have undergone inversion and that some chromosome components were possibly paracentric inversion heterozygotes. The abnormal rate of chromosomal behaviors at anaphase I and II was different in the two species. At anaphase II, 8.8% cells were observed with lagging chromosomes which in each cell did not exceed two in *M. yuyuanensis*, but in *M. patungensis*, 29.2% cells were observed with lagging chromosomes which could reach 11 in each cell. Additionally, broken chromosomes were observed in *M. patungensis*. The above results indicate that the abnormal rate of chromosomal behaviors in the meiosis of *M. patungensis* was higher than that in *M. yuyuanensis*. The abnormal behaviors of the chromosomes in meiosis observed in *M. patungensis* may have affected the development of pollen grains in this species.

Key words *Manglietia patungensis*, *Manglietia yuyuanensis*, endangered species, meiosis.

摘要 对巴东木莲*Manglietia patungensis*及其近缘种乳源木莲*M. yuyuanensis*的花粉母细胞减数分裂过程的基本特征进行了比较研究。乳源木莲与巴东木莲的染色体数目和核型相同,但不经任何人为因素诱导,它们之间在减数分裂过程中的染色体行为上有明显差异。(1)巴东木莲减数分裂中期I构型为0.30IV+18.33II+0.15I,与乳源木莲构型19II不同,巴东木莲可能存在同臂内倒位杂合子,染色体结构存在一定的杂合性。(2)后期I和后期II染色体行为异常现象发生频率明显不同。以后期II为例,乳源木莲减数分裂相中有迟滞染色体的细胞占8.8%,迟滞染色体不超过2个;巴东木莲有迟滞染色体等异常现象的细胞占29.2%,迟滞染色体最高达11个,还出现染色体碎裂成断片现象。巴东木莲减数分裂过程中染色体组表现出染色体结构杂合变异和迟滞染色体与染色体的断裂频率很高的异常现象在一定程度上可能影响了雄配子体的发育。

关键词 巴东木莲; 乳源木莲; 濒危物种; 减数分裂

———————————

2004-10-19 收稿, 2005-07-05 收修改稿。

基金项目:中国科学院方向性项目(KSCX2-SW-104); 中国科学院武汉植物园项目(01035123,01005115)(Supported by grants from the Chinese Academy of Sciences (Grant No. KSCX2-SW-104) and from the Wuhan Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences (Grant Nos. 01035123, 01035107)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: jianqiangl@hotmail.com)。

木莲属*Manglietia* Bl.是现存木兰科Magnoliaceae植物中最原始的类群(刘玉壶, 1984),其现代分布中心位于亚洲热带和亚热带地区。该属有30种,中国有21种,主要分布在长江以南的南部和西南部地区(刘玉壶, 1996)。

巴东木莲*M. patungensis* Hu是一个濒危物种,分布于我国湖北(利川、巴东和咸丰)、湖南(永顺、桑植和大庸)和重庆(南川)一带海拔700–1000 m的常绿阔叶林中(Fu, 1992; 李晓东等, 2004), 其分布区位于木莲属植物分布区的北缘。乳源木莲*M. yuyuanensis* Law分布于广东、湖南、江西、安徽和浙江(刘玉壶, 1996)。巴东木莲曾被归并到红花木莲*M. insignis* (Wall.) Bl.中(Chen & Nooteboom, 1993),但也有学者对此提出了不同意见,承认巴东木莲作为一个独立物种的分类地位(刘玉壶, 1996; 孟爱平等, 2004)。

木莲属的细胞学研究国内外曾有一些报道(Janaki Ammal, 1952; 陈瑞阳等, 1985, 1989; Goldblatt, 1988; 陈忠毅等, 1989, 1990),其中大部分仅为染色体数目报道。李秀兰等(1997)对木莲属一些物种的核型进行了比较研究;孟爱平等(2004)对巴东木莲、红花木莲和乳源木莲进行了核型研究,但关于它们的染色体的结构和行为特征至今未见报道。减数分裂是有性生殖的前提。减数分裂染色体的行为特征与基因的行为特征是具有相关性的(Swanson et al., 1981)。近年来由于人类活动和生态环境的恶化(生境片段化和生境丧失),使得巴东木莲的分布范围在缩小,种群数量也在减少。在其分布区内大树甚少,幼苗少见,呈零散不连续的分布,这种生存状态对巴东木莲物种遗传多样性及其群体遗传结构所产生的影响,已引起生态学和保护生物学等研究领域的广泛关注(李晓东等, 2004)。本文旨在通过对巴东木莲和其近缘广布种乳源木莲减数分裂过程染色体形态和行为的比较观察,为研究巴东木莲的濒危机制提供细胞遗传学证据。

1 材料和方法

巴东木莲取自栽培在中国科学院武汉植物园木兰科植物专类园内的3棵成年植株和原产地巴东县的1棵成年植株。凭证标本存中国科学院武汉植物园标本馆(HIB)。乳源木莲取自栽培在中国科学院武汉植物园木兰科植物专类园内的1棵成年开花植株。

于2003年2月下旬取幼嫩枝芽若干,先剥去苞片和叶片,取出茎尖顶端分生组织在0.1%的秋水仙碱和0.002 mol/L 8-羟基喹啉的混合液(1∶1)中预处理3 h,卡诺液固定1 h。于4月中旬选未成熟花蕾若干,先剥去花蕾苞片,取出进入减数分裂时期的幼小花药用冰醋酸纯酒精(1∶3)混合液固定4–8 h。染色体制备采用去壁低渗Giemsa染色方法(朱澂, 1982)。Leitz显微镜镜检,并进行染色体计数和拍照。

2 结果和分析

2.1 巴东木莲

巴东木莲体细胞染色体数目为2n=2x=38(图1),终变期和中期I一般形成19个二价体(图2),但少数花粉母细胞出现有1个4连体。在中期I观察到四价体为十字型(图3),或呈链状(图4)。少数细胞出现了2个单价体(图5),可能是联会失败或联会提前消失所致。统计27个

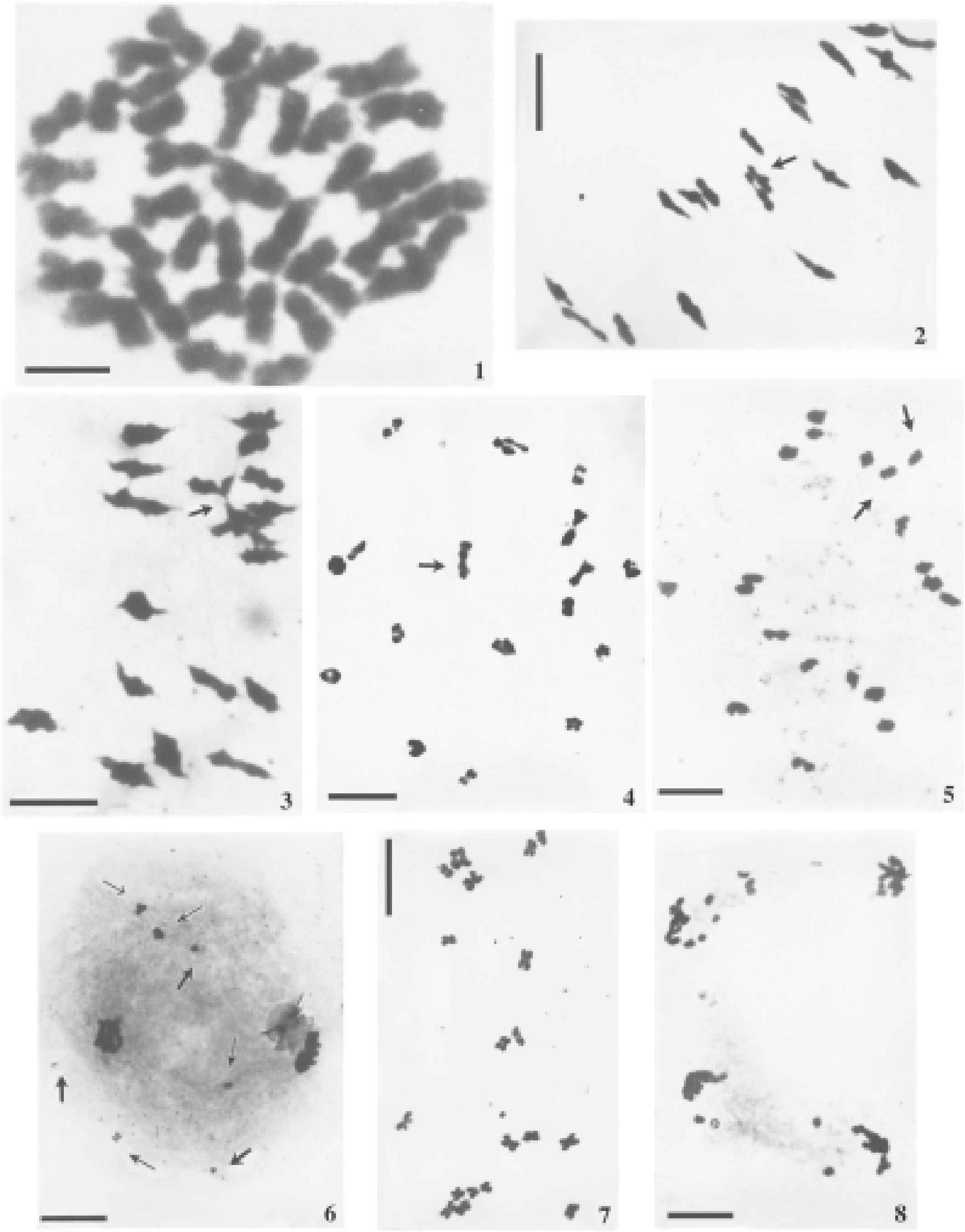

表**1**　巴东木莲和乳源木莲染色体配对频率和分布范围
Table 1　Mean frequency of chromosome pairing and range values at metaphase I of *Manglietia patungensis* and *M. yuyuanensis*

物种 Species	染色体数 Chromosome number	统计细胞数 No. of cells scored	每个细胞平均染色体配对 Mean chromosome pairing per cell1)		
			单价体(I) Monovalent	二价体(II) Bivalent	四价体(IV) Tetravalent
巴东木莲 *M. patungensis* Hu	2n=2x=38	27	0.152)	18.33	0.30
			0–23)	17–19	0–1
乳源木莲 *M. yuyuanensis* Law	2n=2x=38	30	0	19	0

1) 含拟多价体; 2) 平均每个细胞有0.15个单价体; 3) 表示单价体最少为0个/细胞，最多为2个/细胞。
1) The quasimultivalent was included in this table. 2) Mean number of monovalents appearing in one cell. 3) Number of monovalents appearing in one cell, ranging from zero to two.

构型清晰的中期I细胞(表1),平均每个细胞染色体构型为0.30IV+18.33II+0.15I。随机统计113个后期I细胞,发现有23.0%的细胞中有1–7个迟滞染色体或断片(图6)。

巴东木莲的减数分裂后胞质分裂与红花木莲一样为修饰性的同时型。中期II时子细胞染色体形态和着丝点清晰,可作半核型分析研究配子体的核型特征(图7)。随机统计65个后期II细胞,有29.2%(19/65,表1)的细胞中出现迟滞染色体或断片,较后期I时期发生频率增高,同时迟滞染色体数目也有增加,最多可达11个(图8)。

2.2　乳源木莲

乳源木莲体细胞染色体数目为2n=2x=38(图9),终变期和中期I形成19个二价体(图10, 11),未出现四价体等异常情况,中期I平均每个细胞染色体构型为19个二价体(表1),后期I仅9.5%的细胞有迟滞染色体(表2)。

表**2**　巴东木莲和乳源木莲在减数分裂过程中的异常染色体
Table 2　Abnormal chromosomes of *Manglietia patungensis* and *M. yuyuanensis* in meiosis

物种 Species	后期I Anaphase I		后期II Anaphase II	
	被观察的花粉母细胞数目 No. of pollen mother cells (PMCs) observed	具异常染色体的花粉母细胞的百分比(%) Percentage of PMCs with abnormal chromosomes (%)1)	被观察的花粉母细胞数目 No. of PMCs observed	具异常染色体的花粉母细胞的百分比(%) Percentage of PMCs with abnormal chromosomes (%)1)
巴东木莲 *M. patungensis*	113	23.0	65	29.2
乳源木莲 *M. yuyuanensis*	230	9.5	68	8.8

1) 异常的染色体包括迟滞染色体、染色体桥、染色体片段和微核。
1) Abnormal chromosomes include lagging chromosome, chromosome bridge, chromosome fragment and micronucleus.

←
图**1–8**　巴东木莲染色体图像　**1.** 体细胞染色体2n=2x=38。**2–8.** 减数分裂各时期图像。 **2.** 中期I，2n=19II,箭示四价体。**3, 4.** 中期I，2n=1IV+17II,箭示四价体。**5.** 中期I，2n=18II+2I,箭示两个单价体。**6.** 后期I,细箭示迟滞染色体,粗箭示染色体断片。**7.** 中期II。**8.** 后期II。
Figs. 1–8. Chromosome configuration of *Manglietia patungensis* Hu.　**1.** Chromosome number of somatic cell: 2n=2x=38. **Figs. 2–8**. Chromosome configuration in meiosis. **2–5.** At metaphase I. **2.** 2n=19II, arrow shows a tetravalent. **3, 4.** 2n=1IV+17II, arrow shows a tetravalent. **5.** 2n=18II+2I, arrows show two univalents. **6**. At anaphase I. Thin arrows show lagging chromosomes and thick arrows show chromosome fragments. **7**. At metaphase II. **8.** At anaphase II.
Scale bars=5 μm in Fig. 1, 10 μm in Figs. 2–8.

减数分裂后胞质分裂与红花木莲、巴东木莲一样为修饰性的同时型。中期II时子细胞染色体形态和着丝点清晰(图12),后期II有8.8%的细胞有1–2个迟滞染色体(图13, 表2)。统计277个花粉有21个空败(占7.6%),与后期I和后期II出现的迟滞染色体频率基本相同。

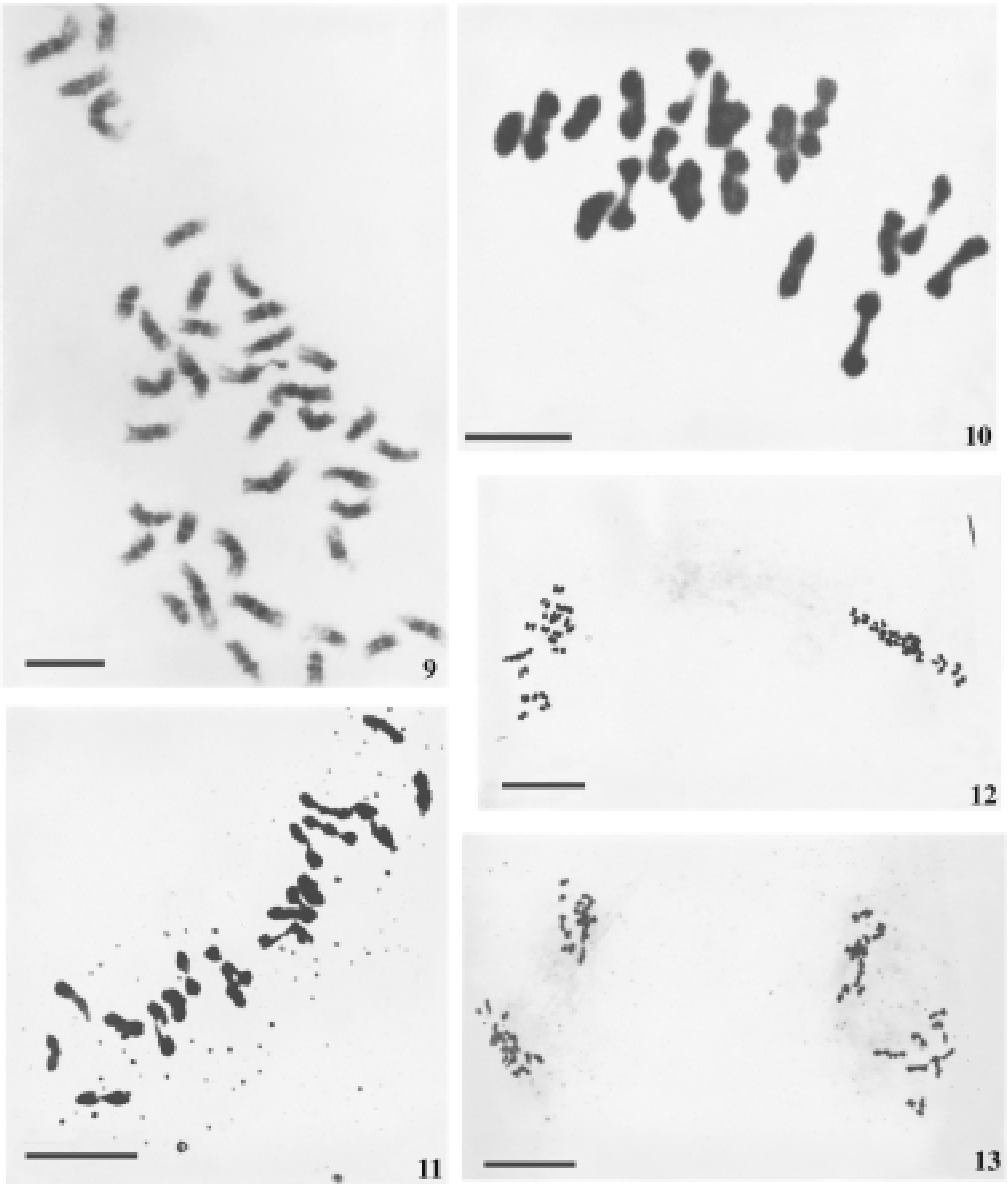

图**9–13** 乳源木莲染色体图像 **9.** 体细胞染色体数目2n=2x=38。**10–13.** 减数分裂各时期图像 **10, 11.** 中期I, 2n=19II。**12.** 晚中期II。**13.** 后期II。

Figs. 9–13. Chromosome configuration of *Manglietia yuyuanensis* Law. **9.** Chromosome number of somatic cell: 2n=2x=38. **Figs. 10–13.** Chromosome configuration in meiosis. **10, 11.** At metaphase I, 2n=19II. **12.** At late metaphase II. **13.** At anaphase II.

Scale bars=5 μm in Fig. 10, 10 μm in Figs. 9, 11–13.

3　讨论

木兰科植物体细胞染色体数目和形态的研究已有大量的报道,但减数分裂过程中染色体的结构和行为特征研究甚少。在对红花木莲和香木莲*M. aromatica* Dandy的胚胎学研究中,发现虽然在小孢子发生过程中有部分造孢细胞、小孢子母细胞和二分体有败育现象,但未见染色体行为异常的报道;小孢子发生过程正常,而且能产生大量发育正常的小孢子(潘跃芝等, 2001, 2003)。在近期对木兰科部分植物减数分裂细胞学研究中,我们已发现一些种类,如紫玉兰的小孢子母细胞有染色体次级结构变异和四分体中有微核出现等异常现象(何子灿等,待发表)。乳源木莲与巴东木莲染色体数目和核型公式相同,减数分裂比较结果显示不经任何人为因素诱导,巴东木莲与乳源木莲结果明显不同。巴东木莲减数分裂中期I构型与乳源木莲不同,前者中期I和终变期构型较为复杂,平均单个细胞中期I构型为0.30IV+18.33II+0.15I,有单价体、二价体、多价体;其多价体的形成是由染色体交叉的力量连在一起的固定多价体(definitive multivalent),推测可能与其存在同臂内倒位杂合子有关,染色体结构存在一定的杂合性, 还有自发的染色体断裂成断片这一现象。后者构型较为简单,平均单个细胞中期I构型为19个二价体。Davies等(1985)和张文俊等(1998)在小麦研究中曾注意到染色体断裂点是否产生对获得易位系至关重要。巴东木莲自发的染色体断裂与上面提到的同臂内倒位杂合子的形成可能有一定关系。巴东木莲和乳源木莲减数分裂后期I和后期II出现的迟滞染色体等染色体行为异常现象发生频率明显不同,以后期II为例,乳源木莲减数分裂相中有迟滞染色体的占8.8%,迟滞染色体数不超过2个;巴东木莲分裂相中除迟滞染色体数可在1–11个外,迟滞染色体和断片发生频率高达29.3%。已有的研究结果表明,具微核的细胞最早在四分体时期就死亡(Ma et al., 1994; 张仲鸣等, 1997)。巴东木莲减数分裂过程中染色体组表现出迟滞染色体与染色体的断裂频率很高的异常现象在一定程度上可能影响了花粉(雄配子体)的发育。

参　考　文　献

Chen B L, Nooteboom H P. 1993. Notes on Magnoliaceae III. The Magnoliaceae of China. Annals of the Missouri Botanical Garden 80: 1080.

Chen R-Y (陈瑞阳), Chen Z-G (陈祖耕), Li X-L (李秀兰), Song W-Q (宋文芹). 1985. Chromosome numbers of some species in the family Magnoliaceae in China. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 23: 103–105.

Chen R-Y (陈瑞阳), Zhang W (张炜), Wu Q-A (武全安). 1989. Chromosome numbers of some species in the family Magnoliaceae in Yunnan of China. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究) 11: 234–238.

Chen Z-Y (陈忠毅), Law Y-W (刘玉壶), Chen S-J (陈升振), Huang S-F (黄少甫). 1989. The chromosome numbers of Magnoliaceae. Acta Botanica Austro Sinica (中国科学院华南植物研究所集刊) 4: 67–74.

Chen Z-Y (陈忠毅), Law Y-W (刘玉壶), Chen S-J (陈升振), Huang X-X (黄向旭). 1990. Chromosome data of some Chinese magnoliaceous plants. Acta Botanica Austro Sinica (中国科学院华南植物研究所集刊) 6: 50–53.

Davies P D, Pallotta M A, Driscoll C J. 1985. Centric fusion between nonhomologous rye chromosomes in wheat. Canadian Journal of Genetics and Cytology 27: 627–632.

Fu L-K. 1992. China Plant Red Data Book—Rare and Endangered Plants. Beijing: Science Press. 214–118.

Goldblatt P. 1988. Index to Plant Chromosome Numbers 1984–1985. Missouri: Missouri Botanical Garden.

Janaki Ammal E K. 1952. The race history of Magnolias. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 12: 82–92.

Li X-D (李晓东), Huang H-W (黄宏文), Li Z-Z (李作州), He J-S (何敬胜), Li X-W (李新伟), Li J-Q (李建强). 2004. Distribution and conservation strategy of endangered *Manglietia patungensis* Hu. Journal of Wuhan Botanical Research (武汉植物学研究) 22: 421–427.

Li X-L (李秀兰), Song W-Q (宋文芹), An Z-P (安祝平), Chen R-Y (陈瑞阳). 1997. The karyotype comparison among some species of *Manglietia* in China. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis (南开大学学报自然科学版) 30: 109–112.

Law Y-W (刘玉壶). 1984. A preliminary study on the taxonomy of the family Magnoliaceae. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 22: 89–109.

Law Y-W (刘玉壶). 1996. *Manglietia*. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 30 (1): 85–106.

Ma T H, Cabrera G L, Chen R. 1994. *Tradescantia* micronucleus bioassay. Mutation Research-Genomics 310: 221–230.

Meng A-P (孟爱平), He Z-C (何子灿), Li J-Q (李建强), Wang H-C (王恒昌). 2004. Karyomorphology of three *Manglietia* (Magnoliaceae) species. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究) 26: 317–320.

Pan Y-Z (潘跃芝), Liang H-X (梁汉兴), Gong X (龚洵). 2001. Studies on the formation of microspores and development of male gametes in *Manglietia insignis*. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究) 23: 85–89.

Pan Y-Z (潘跃芝), Gong X (龚洵), Liang H-X (梁汉兴). 2003. A study on the embryology of endangered plant *Manglietia aromatica*. Journal of Wuhan Botanical Research (武汉植物学研究) 21: 1–8.

Swanson C P, Merz T, Young W J. 1981. Cytogenetics—The Chromosome in Division, Inheritance and Evolution. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall. 239.

Zhang W-J (张文俊), Zhang X-Q (张晓勤) , Jing J-K (景建康), Hu H (胡含). 1998. The behavior of rye chromosome 6R at meiosis in wheat background. Acta Genetica Sinica (遗传学报) 25: 54–58.

Zhang Z-M (张仲鸣), Sodmergen (苏都莫日根), Li Z-L (李正理). 1997. Micronucleus formation in microspores of *Ginkgo biloba* and its significance in evolution. Acta Botanica Sinica (植物学报) 39: 97–101.

Zhu C (朱澂). 1982. Plant Chromosome and Chromosomal Technique (植物染色体及染色体技术). Beijing: Science Press. 99–114.